Münster 1935 No 79 Med Diss

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westf.
Direktor: Prof. Dr. med. et phil. H. Freund.

Ueber den Einfluß von Fluorid, Bromacetat und Oxalat auf die Eiweißverdauung.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster/Westf.

vorgelegt von
Maria Wäsche
(Zahnärztin)
aus Bitburg.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.

1935

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Dekan: Prof. Dr. Klinge 1935

Berichterstatter:
Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Die Verzögerung der Milchsäurebildung im Gewebe ist für die drei einander chemisch nicht nahestehenden Verbindungen Fluorid, Bromacetat und Oxalat bekannt. Der hemmende Einfluß des Bromacetats wurde von Schwartz und Oschmann[1]) aufgefunden. Nach Lipmann[2]) hemmt Natriumfluorid in n/100 Lösung die Milchsäurebildung um 100%, Oxalat nach Meyerhof[3]) in n/20 Lösung um 90%. Nach Haarmann[4]) gelingt es mit Zusatz der drei Verbindungen zu überlebenden Geweben, nicht nur die Milchsäurebildung vollkommen zu unterdrücken, sondern darüber hinaus unter anaeroben Bedingungen ein Verschwinden der ursprünglich vorhandenen Milchsäure nachzuweisen. Beträchtliche Einwirkungen von Bromacetat, Fluorid und Oxalat auf die Dehydrierungsvorgänge stellten Baehrens[5]) im hiesigen Institut fest, desgleichen Roth[6]) auf die Oxydationsvorgänge. Diese Versuche erbrachten den Nachweis, daß die drei Verbindungen wohl ähnlich, aber nicht gleich wirken. In höheren Konzentrationen üben die drei Verbindungen einen stark hemmenden Einfluß auf die Stoffwechselvorgänge aus, bei starken Verdünnungen dagegen einen fördernden. Das gleiche fand sich auch in unveröffentlichten Versuchen von Haarmann mit Stratmann über die Bildung der Milchsäure im Gewebe und nach Schröder[7]) für die Phosphatabspaltung aus einigen organischen Phosphorsäuren. Die Hefegärung wird nach Versuchen von

---

[1]) Schwartz u. Oschmann: C. r. d. soc. d. biol. 91, 275, 1924; 92, 165, 1925.

[2]) Lipmann: Biochem. Z. 196, 3, 1928.

[3]) Meyerhof: Pflügers Arch. 188, 114, 1921.

[4]) Haarmann: Biochem. Z. 256, 350, 1932.

[5]) Baehrens: Inaugural-Dissertation, Münster 1932.

[6]) Roth: ebenda 1933.

[7]) Schröder: Inaugural-Dissertation, Münster 1934.

Gronau[8]) durch höhere Konzentrationen von Fluorid und Bromacetat vollkommen unterdrückt und durch Oxalat nicht nennenswert beeinflußt. In allerjüngster Zeit wurde die Jodessigsäurewirkung benutzt, um den Mechanismus der Zuckerresorption durch die Darmschleimhaut aufzuklären. Nach Wilbrandt und Laszt[9]) wird die Zuckerresorption aus dem Darm durch Jodessigsäure in ganz spezifischer Weise beeinträchtigt. Jodessigsäure hemmt die Resorption der Hexosen (Glukose, Fruktose), die der Pentosen nicht. Aus diesen Versuchen wurde gefolgert, daß, da Jodessigsäure die Phosphorylierung der Glukose in der Darmschleimhaut hemmt, die Veresterung der Hexosen mit Phosphorsäure die Vorbedingung für die Resorption ist. Pentosen, die nicht phosphoryliert werden, werden deshalb auch bei Gegenwart von Jodacetat durch den Darm aufgenommen. Da auch die Resorption von Fettsäuren nach Feststellungen von Verzar und Laszt[10]) durch Todacetat gehemmt wird, schließen die Forscher daraus, daß auch die Resorption der Fettsäuren mit einer Phosphorylierung verbunden ist. In einer Arbeit aus allerletzter Zeit konnte Laszt[11]) den Nachweis erbringen, daß Glyzerinextrakte aus Darmschleimhaut mit Glukose, Dextrose und Galaktose in Phosphatpuffer eine Abnahme von anorganischem Phosphat ergaben. Dieser Vorgang wird durch 1/5000 Jodacetat stark verzögert. Pentosen (Xylose und Mannose) geben keine Abnahme des anorganischen Phosphats. Diese Versuche werden als Stütze der oben angeführten Arbeit von Wilbrandt und Laszt abgegeben. Über den Einfluß von Fluorid, Bromacetat und Oxalat auf die Verdauung von Eiweißstoffen liegen eine Reihe von sich widersprechenden Arbeiten im Schrifttum vor. Kaufmann[12]) fand Fluorid auf die Trypsinverdauung als unschädlich, desgleichen Arthus

---

[8]) Gronau: Inaugural-Dissertation Münster 1935 unveröffentlicht.

[9]) Wilbrandt u. Laszt: Biochem. Z. 259, 398, 1933.

[10]) Verzar u. Laszt: ebenda, 270, 24, 1934.

[11]) Laszt: Ebenda 276, 44, 1935.

[12]) Kaufmann: Physiol. Chem. 39, 434, 1903.

und Huber[13]) und Vandevelde und Poppe[14]), während Treyer[15]) eine Hemmung der Pepsin- und Trypsinverdauung feststellte. Nach Weiß[16]) hemmt Oxalat die tryptische Pankreasverdauung selbst in hohen Konzentrationen nur wenig. Barth[17]) behauptet, daß die Jodessigsäure, die in ihrer Wirkung der Monobromessigsäure entspricht, selbst in einer Konzentration von 0,2% und darüber noch nicht verzögernd auf die Pepsinverdauung einwirkt. Dem gegenüber stellten Michlin und Rubel[18]) eine hochgradige Schädigung der Proteasen von normalen Geweben, malignen Geschwulstzellen und zellfreien Extrakten durch n/1000 Monojodessigsäure fest. Fast alle Autoren verwandten zu ihren Versuchen relativ hohe Konzentrationen der geprüften Mittel, meist nur eine bestimmte Konzentration. Versuche an Konzentrationsreihen wurden nicht ausgeführt.

Es war die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, die Einwirkung von Na-Fluorid, monobromessigsaurem Natrium und Kaliumoxalat auf die Eiweißverdauung durch Pepsin und Pankreatin zu untersuchen. Die Versuche wurden, um die Wirkung der drei Stoffe miteinander vergleichen zu können, in aequimolaren Konzentrationen der Salze angestellt. Es wurde das Kaliumsalz der Oxalsäure benutzt, weil das Natriumsalz nicht genügend wasserlöslich ist.

Versuchsanordnung.

Die Abbauprodukte, wie sie bei der Pepsin- und Pankreatinverdauung des Eiweißes auftreten, wurden jodometrisch bestimmt. Diese Methode wurde von Kober[19]) eingeführt. Sie fand aber bisher nur sehr spärliche Anwendung. Die Methode beruht dar-

---

[13]) Arthus u. Huber: C. r. d. l'Acad. d. sciences, Bd. 115.

[14]) Vandevelde u. Poppe: Biochem. Z. 28, 134, 1910.

[15]) Treyer: Arch. d. Physiol. 1898, 672, zit. nach Kaufmann.

[16]) Weiß: Z. f. physiol. Chem. 40, 480, 1904.

[17]) Barth: Biochem. Z. 270, 63, 1934.

[18]) Michlin u. Rubel: Biochem. Z. 260, 121, 1933.

[19]) Kober u. Sugiura, II. Mittlg., Amer. Chem. 48, 383, 1912, zit. n. Utkin, Biochem. Z. 267, 69, 1933.

auf, daß Aminosäuren in schwach alkalischem Medium mit Kupferhydroxyd lösliche Kupferkomplexverbindungen bilden. Das aufgelöste Kupferhydroxyd wird jodometrisch bestimmt und hieraus die Menge des Aminostickstoffs ermittelt. Einbasische Aminosäuren verbinden sich mit einem halben Molekül $Cu(OH)_2$, zweibasische Aminosäuren dagegen mit einem Molekül $Cu(OH)_2$. Nach Untersuchungen von Kober verbinden sich die Peptide, gleichgültig wieviel Aminosäuren sie enthalten, mit je einem Molekül Kupferhydroxyd. Hierauf beruht der Nachteil der jodometrischen Methode zu den bisher angewandten von Sörensen, Willstätter, Linderström-Lang oder von van Slyke, bei denen die freien Aminosäuren bestimmt werden. Die Kober'sche Methode ist daher für den Abbau nur eines Eiweißstoffes brauchbar, nicht aber für Gemische von verschiedenen Eiweißen. Ein weiterer Nachteil ist die schlechte Löslichkeit der Kupferverbindungen von einigen Aminosäuren, wodurch diese sich der Bestimmung entziehen. Handelt es sich um die Verfolgung der Spaltung von Proteinen durch Trypsin und Pepsin und nicht um Spaltung von niederen Peptiden von bestimmter Zusammensetzung, so ist die Methode für vergleichende Untersuchungen von Giftwirkungen sehr brauchbar. Es ist unbedingt erforderlich, daß alle Versuche unter genau den gleichen Bedingungen ausgeführt werden. Die Kober'sche Methode ist eine Mikromethode und erheblich empfindlicher als alle übrigen Methoden, wo die Menge der Korboxylgruppen bzw. Aminogruppen, die durch die Fermenttätigkeit in Freiheit gesetzt werden, acidi- bzw. alkalimetrisch bestimmt werden. Als weiterer Vorzug der Kober'schen Methode ist anzuführen, daß die Titrationswerte vom Medium, also der Säure- bzw. Alkalikonzentration der zu untersuchenden Lösung unabhängig sind. Utkin[20]) hat die Kober'sche Methode modifiziert und verbessert. Er fällt das Eiweiß nicht mit einer wässrigen Aufschwemmung von Kupferhydroxyd aus, sondern erzeugt dieses in der zu untersuchenden Lösung durch Zugabe von Kupferchlorid und Natronlauge. Wir haben zunächst unsere Versuche

[20]) Utkin: Biochem. Z. 267, 69, 1933.

nach der Utkin'schen Methode durchgeführt, kamen aber zu keinem brauchbaren Ergebnis. Die Mißerfolge beruhten darauf, daß es nicht einfach ist, die zur Ausfällung des Kupfers notwendige Menge Lauge zu ermitteln. Ist die Laugenmenge zu gering, dann geht freies Kupfersalz in das Filtrat über, ist sie zu groß, dann geht Eiweiß in Lösung und in das Filtrat über. In jedem Fall sind die Kupferwerte, die jodometrisch bestimmt werden, zu hoch. Als weiterer Übelstand zeigte sich, daß der Niederschlag von Kupferhydroxyd und Kupfereiweiß sich nur schlecht filtrieren läßt und das Filtrat nicht klar ist. Wir haben nach vielen vergeblichen Mühen die folgende Bestimmungsmethode für unsere Versuche angewandt.

Die erforderlichen Lösungen sind:

1. eine 10%ige Kupfersulfatlösung,
2. eine Suspension von 100 g Magnesiumoxyd auf 3 l Wasser bei Untersuchungen der Pankreatinverdauung,
3. eine Suspension von 200 g Magnesiumoxyd auf 3 l Wasser bei Untersuchungen der Pepsinverdauung,
4. Caseinlösung. In einer großen Kochschale werden 60 g Casein nach Hammarsten (Merck) mit 950 ccm Aqu. dest. vermischt und 50 ccm n-Natronlauge hinzugegeben. Darauf wird das Ganze auf einem schwach siedenden Wasserbad unter Umrühren mit einem Glasstab bis zur Auflösung des Caseins erhitzt. Zum Schluß fügt man 1 g Thymol zu der heißen Lösung und läßt erkalten.
5. Gelatinelösung. 50 g Gelatine werden in 1 l Wasser von 40 °C gelöst.
6. Eiereiweißlösung. 50 g Eiereiweiß (album. owi sicc. Merck) werden bei 40 °C in einem Liter Wasser aufgelöst.
7. Zur Gewinnung einer 3%igen sauren Lösung von Casein bzw. Eiereiweiß werden gleiche Teile der Casein- bzw. Eiereiweißlösung langsam mit der gleichen Menge einer 0,25 n Salzsäurelösung unter Umrühren versetzt.
8. Boratpufferlösung von pH = 8,8 für Untersuchungen der Pankreatinverdauung. Zu 1500 ccm einer m/10 Boraxlösung

werden 100 ccm n - HCl zugefügt und die Mischung mit Wasser auf 2000 ccm aufgefüllt.

9. Eisessig.
10. Kaliumjodidlösung. 400 g Kalium jodatum auf 1000 ccm Wasser.
11. n/100 Na - Thiosulfat.
12. Stärkelösung. 1 g lösliche Stärke auf 100 ccm Aqu. dest.

Die Zusammensetzung der Versuchsansätze war

a) bei der Pepsinverdauung
   10 ccm salzsaure Casein- bzw. Eiereiweißlösung,
   5 ccm Zusätze (Kontrollversuche Aqu. dest., Hauptversuche Fluorid, Bromacetat, Oxalat).
   10 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Pepsin absol. Merck);
b) bei der Pankreatinverdauung
   5 ccm 6%ige Casein- bzw. 5%ige Gelatinelösung,
   10 ccm Boratpuffer, 5 ccm Zusätze,
   5 ccm 2%ige Pankreatinlösung (Pankreatin absol. Merck).
   Diese Fermentlösungen werden zu jedem Versuch frisch hergestellt und vor dem Gebrauch filtriert.

Die Konzentration des Pepsins bzw. Pankreatins in den Versuchsansätzen beträgt mithin 0,2 %, der Caseinlösung 1,2 %, und der Gelatine- bzw. Eiereiweißlösung 1 %. Die Konzentration der Salzsäure in den Pepsinversuchen 0,05 n.

Die Versuche blieben 5 Stunden lang bei Zimmertemperatur bzw. bei 37 ° C stehen und wurden dann durch Zusatz von 25,0 ccm 10%ige Kupfersulfatlösung und 50,0 ccm Magnesiumoxydsuspension unterbrochen. Der Inhalt der Flaschen wird öfters gut durchgeschüttelt. Durch Umsetzung von Kupfersulfat mit Magnesiumhydroxyd entsteht Kupferhydroxyd, durch das alles nicht verdaute Eiweiß niedergeschlagen wird. Nach ½stündigem Stehen wird die Flüssigkeit durch ein trockenes Faltenfilter filtriert. Das Filtrat ist stets vollkommen klar und in Gegenwart von Aminosäuren oder niederen Peptiden tief blau gefärbt, bei Anwesenheit von höheren Peptiden violett, weil eben die Abbauprodukte verschieden sind. Zur Bestimmung des in Lösung gegangenen Kupfers wurden 50,0 ccm des Filtrats mit 3,0 ccm Eis-

essig angesäuert, wodurch die blaue Kupferfärbung verschwindet. Sodann werden 6,0 ccm Kaliumjodidlösung hinzugefügt. Die Lösung färbt sich durch das freiwerdende Jod braun. $Cu^{\cdot\cdot} + 2\,J = CuJ + \frac{1}{2}\,J_2$. 1 Atom Kupfer scheidet 1 Atom Jod aus, das gegen n/100 Thiosulfat nach Zusatz von 1 ccm Stärke bis zum Verschwinden der blauen Jodfarbe titriert wird. Der direkte Versuch, der sofort unterbrochen wurde, zeigt keinerlei Jodverbrauch. Utkin, der mit einem Glyzerinextrakt des käuflichen Pankreatins arbeitet, findet in seinen direkten Versuchen stets einen Jodverbrauch, weil das Glyzerin als mehrwertiger Alkohol mit Kupferhydroxyd eine komplexe Verbindung liefert. Es sei hier bemerkt, daß die Verwendung von Citrat-, Laktat- und Tartratpufferlösungen die jodometrische Bestimmung der Eiweißabbauprodukte unmöglich macht. Diese Verbindungen liefern komplexe Kupfersalze. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 1—8 zusammengestellt. Die Konzentration der untersuchten Stoffe ist in ihnen angegeben.

Versuchsserie 1. Tabellen 1—4.

In der ersten Versuchsreihe wurde die Einwirkung von Fluorid, Bromacetat und Oxalat auf die Verdauung von Casein und Eiereiweiß durch Pepsinsalzsäure untersucht. Es wurden zwei Parallelversuche ausgeführt, von denen der erste bei 18° und der zweite bei 37° fünf Stunden verdaut wurde. Aus den Versuchen geht hervor, daß die drei untersuchten Verbindungen mit ansteigender Konzentration die Pepsinverdauung verschlechtern. Die Wirkungsstärke der drei Stoffe in äquimolaren Lösungen ergibt dabei erhebliche Unterschiede. Weitaus am stärksten wirksam ist das Oxalat. Fluorid und Bromacetat hemmen wesentlich schwächer und in äquimolaren Konzentrationen um fast den gleichen Betrag. Der verzögernde Einfluß der drei Stoffe macht sich bereits in einer Konzentration von 1.10^{-4} m bemerkbar. Die Hemmung nimmt bei Oxalat in den bei Zimmertemperatur ausgeführten Versuchen (Tabelle 1 u. 3) schnell zu und ist bei der höchsten von uns angewandten Konzentration von 1.10^{-1} m vollkommen. Bereits bei einer Konzentration von 1.10^{-2} m Oxalat

wird die Verdauung von Casein wie auch von Eiereiweiß um rund 80 % verzögert. Bei Fluorid und Bromacetat nimmt der hemmende Einfluß bei ansteigender Konzentration nur langsam zu, und zwar bis zu einer Konzentration von $3{,}16 \cdot 10^{-2}$m. Beim Übergang von dieser Konzentration zu 1.10^{-1} m geht die Hemmung dann sprunghaft in die Höhe und beträgt über 50 % (54 bis 57 %), während sie bei 3,16fach stärkerer Verdünnung nur 23—27 % ausmacht.

Die bei 37° angestellten Versuche weichen in ihren Ergebnissen sehr erheblich von denen, die bei Zimmertemperatur ausgeführt wurden, ab. Die Hemmung der Pepsinverdauung erreicht hier wesentlich niedrigere Werte. Besonders deutlich kommen die Unterschiede in den Oxalatversuchen heraus. Die Konzentrationen von 1.10^{-4} m — 1.10^{-3} m aller drei Verbindungen sind in den Brutschrankversuchen nahezu wirkungslos, während die Hemmungswirkungen, besonders beim Oxalat in den Versuchen bei gewöhnlicher Temperatur bereits sehr stark sind. In den Caseinversuchen hat die Konzentration von $3{,}16 \cdot 10^{-3}$ m Oxalat bei 18° die Verdauung um 54 % herabgesetzt, bei 37° dagegen nur um 30 %. In den entsprechenden Eiereiweißversuchen bei 18° um 41 %, bei 37° um nur 8%.

Die Abbauversuche von Casein und Eiereiweiß verlaufen unter der Einwirkung der drei untersuchten Stoffe prinzipiell vollkommen gleich. Nach Levites[21]) ist die hemmende Wirkung eines Salzes hauptsächlich durch den Säureanteil des Salzes bedingt. Sämtliche Salze wirken auf die peptische Eiweißspaltung mit ansteigender Konzentration hemmend ein. Und zwar ist der Einfluß der Salze um so stärker, je niedriger die Affinitätskonstante der Säure ist, d. h. je schwächer die Säure ist, also je weniger sie dissoziiert ist. Natriumacetat übt dementsprechend eine stärkere hemmende Wirkung aus als die Salze von stärkeren Säuren, z. B. Kaliumoxalat, Natriumsulfat oder Natriumchlorid. Die Konzentration der untersuchten Salze betrug in den Versuchen von Levites 1 n bis 1/16 n, sie war also wesentlich höher als in unseren

[21]) Levites: Physiol. Chem. 48, 187, 1906.

Versuchen. Durch die Einwirkung der Salze auf die Magensalzsäure tritt eine Umsetzung mit dieser ein. Die schwächeren Säuren, z. B. Essigsäure, werden durch die Salzsäure in Freiheit gesetzt unter Bildung von Kochsalz. Die freie Salzsäure verschwindet z. T., so daß die optimale Reaktion für die peptische Eiweißverdauung nicht mehr bestehen bleibt. Die Hemmung wäre demnach nicht auf den direkten Einfluß der Salze zu beziehen, sondern nur eine Folge des Salzsäuremangels. Diese Deutung der Salz-

Tabelle 1. Pepsin + Casein.
18° C.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Fluorid	Bromacetat	Oxalat	Fluorid	Bromacetat	Oxalat
Kontrolle	2,20	2,20	2,20	1,00	100	100
1.10^{-4}m	2,05	1,90	1,90	93	87	87
$3.16.10^{-4}$m	2,00	1,90	1,70	91	87	77
1.10^{-3}m	1,95	1,90	1,65	89	87	75
$3.16.10^{-3}$m	1,85	1,80	1,00	84	82	46
1.10^{-2}m	1,75	1,75	0,45	80	80	20
$3.16.10^{-2}$m	1,70	1,60	0,15	77	73	7
1.10^{-1}m	0,95	1,00	0,05	43	46	0,5

Tabelle 2. Pepsin + Casein.
37° C.

Kontrolle	3,30	3,30	3,30	100	100	100
1.10^{-4}m	3,30	3,15	3,10	100	96	94
$3.16.10^{-4}$m	3.30	3,15	3,10	100	96	94
1.10^{-3}m	3,25	3,15	3,10	99	96	94
$3.16.10^{-3}$m	3,20	2,95	2,30	97	90	70
1.10^{-2}m	3,10	2,80	1,10	94	85	33
$3.16.10^{-2}$m	3,05	2,80	0,65	93	85	20
1.10^{-1}m	2,10	1,80	0,40	64	55	12

Tabelle 3. Pepsin + Eiereiweiß.
18° C.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Fluorid	Bromacetat	Oxalat	Fluorid	Bromacetat	Oxalat
Kontrolle	2,20	2.20	2 20	100	100	100
1.10^{-4}m	2,00	2,20	2,00	91	100	91
$3,16.10^{-4}$m	1,90	2,20	1,75	86	100	80
1.10^{-3}m	1,95	2,15	1,70	89	98	77
$3,16,10^{-3}$m	1,90	2,10	1,30	86	96	59
$1\ 10^{-2}$m	1,80	1.95	0,50	82	89	23
$3,16.10^{-2}$m	1,75	1,70	0,40	80	77	80
$1\ 10^{-1}$m	0,90	0,90	0,00	41	41	0

Tabelle 4. Pepsin + Eiereiweiß.
37° C.

Kontrolle	3.60	3,60	3,60	100	100	100
1.10^{-4}m	3,40	3,45	3,45	95	96	96
$3,16.10^{-4}$m	3,30	3,30	3,45	92	92	96
1.10^{-3}m	3,25	3,25	3,40	90	90	95
$3.16,10^{-3}$m	3,25	3,20	3,30	90	90	92
1.10^{-2}m	3,20	3,20	0,60	89	90	17
$3,16.10^{-2}$m	3,20	3,10	0,20	89	86	6
1.10^{-1}m	1.85	1 10	0,00	51	30	0

wirkung kommt für unsere Versuche nicht in Betracht, weil auch in stärkeren Verdünnungen von Oxalat die Hemmung sehr hochgradig ist. Eine Verringerung des Säuregrades durch Umsetzung des Kaliumoxalats mit Salzsäure, z. B. bei 1.10^{-2} m ist rein rechnerisch nur unwesentlich. Gegen die Beweisführung von Levites ist fernerhin einzuwenden, daß bei der Pankreatinverdauung Oxalat keine Hemmungswirkungen zeigen dürfte, weil die alkalische Reaktion durch das Oxalat nicht verändert wird. Die Erklärungs-

versuche der Salzwirkung auf die peptische Spaltung des Eiweißes von Levites sind deshalb nicht stichhaltig. Unsere Versuche bilden eine Bestätigung der Versuche von Treyer, der in 1%iger Natriumfluoridlösung die Pepsinverdauung stark verzögert fand, desgleichen eine Bestätigung der Arbeiten von Vandevelde und Poppe, die keinen Einfluß von Natriumfluorid (0,01 und 0,03 g Fl. pro Liter) also von ca. m/1000 NaF auf die Pepsinsalzsäureverdauung von Eiereiweiß und Fibrin auffanden. Die widersprechenden Angaben im Schrifttum beruhen nach unseren Untersuchungen darauf, daß die Voruntersucher jeweils nur mit einer bestimmten Konzentration der Salze arbeiteten und nicht wie wir Versuche an Konzentrationsreihen ausführten. Eine weitere Unsicherheit in älteren Versuchen erklärt sich z. T. auch durch die sehr lange Verdauungszeit. Besonders in den Versuchen mit Trypsin läßt sich ein Bakterienwachstum nicht mit Sicherheit ausschließen. Die Feststellung von Barth, daß die Monojodessigsäure in m/100 Lösung die Pepsinverdauung von Fibrin nicht hemmt, stimmt mit unseren Ergebnissen nicht vollkommen überein. Selbst höhere Konzentrationen bis zu 5.10^{-1} m ergaben nach Barth nur geringfügige Hemmungen. In unseren Versuchen dagegen ist bei einer Konzentration von 1.10^{-1} m die Pepsinverdauung um 50 bis 60% verzögert. Worauf dieser Unterschied in den Ergebnissen zurückzuführen ist, läßt sich nicht ohne weiteres sagen. Die von Barth geübte Versuchsmethode war einmal die nach Mett wie auch die Grützner'sche Carmin-Fibrinmethode.

Versuchsserie 2. Tabellen 5—8.

Die bisher beschriebenen Versuche behandeln den Einfluß von Fluorid, Bromacetat und Oxalat auf die Pepsinverdauung. Im folgenden soll ihre Einwirkung auf die Verdauung von Casein und Gelatine durch Pankreatin untersucht werden. Die Verdauung von Hühnereiweiß wurde nicht geprüft, weil es von Pankreatin nur sehr schwer angegriffen wird. Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 5—8 niedergelegt. Aus den Tabellen geht hervor, daß Fluorid die Caseinverdauung selbst in den höchsten Konzentra-

tionen vollkommen unbeeinflußt läßt und die Gelatineverdauung geringfügig verzögert. Wie in den Pepsinversuchen, so ist auch in den Pankreatinversuchen das Oxalat den beiden anderen Verbindungen in seiner Giftwirkung weit überlegen. Der Caseinabbau durch Pankreatin wird durch Oxalat erheblich schwächer in Mitleidenschaft gezogen als bei der Pepsinverdauung. Während bei der höchsten Konzentration von 1.10^{-1} m die Verdauung des Caseins und Eiereiweißes durch Pepsin fast vollkommen aufhört, wird

Tabelle 5. Pankreatin + Casein.
18° C.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Fluorid	Bromacetat	Oxalat	Fluorid	Bromacetat	Oxalat
Kontrolle	13,40	13,40	13,40	100	100	100
1.10^{-4}m	13,30	13,40	13,45	99	100	100
$3,16\ 10^{-4}$m	13,40	13,30	13,05	100	100	97
1.10^{-3}m	13,40	13,25	12,70	100	99	95
$3,16.10^{-3}$m	13,40	13,00	11,30	100	97	84
1.10^{-2}m	13,40	12,60	10,20	100	94	76
$3,16\ 10^{-2}$m	13,40	11,40	3,20	100	85	24
1.10^{-1}m	13,40	10,90	2,00	100	81	15

Tabelle 6. Pankreatin + Casein.
37° C.

Kontrolle	15,60	15,60	15,60	100	100	100
1.10^{4-}m	15,60	15,60	15,50	100	100	99
$3,16.10^{-4}$m	15,60	15,45	15,40	100	99	99
1.10^{-3}m	15,65	15 40	15,15	100	99	97
$3,16^{-3}$m	15,60	15,40	14,20	100	99	91
1.10^{-2}m	15.60	14,60	12,40	100	94	79
$3,16^{-2}$m	15,60	13,90	5.90	100	89	38
1.10^{-1}m	15,60	12,50	4,20	100	80	27

Tabelle 7. Pankreatin + Gelatine.
18° C.

Konzentration	ccm n/100 Jod			% vom Kontrollversuch		
	Fluorid	Bromacetat	Oxalat	Fluorid	Bromacetat	Oxalat
Kontrolle	4,90	4,90	4,90	100	100	100
1.10^{-4}m	4,65	4,90	4,75	95	100	97
$3.16.10^{-4}$m	4,50	4,85	4,60	92	97	94
1.10^{-3}m	4,50	4,80	4,40	93	98	90
$3.16.10^{-3}$m	4,50	4,40	3,90	92	90	80
1.10^{-2}m	4,50	4,00	2,00	92	82	41
$3,16.10^{-2}$m	4,50	3,75	0,65	92	76	13
1.10^{-1}m	4,50	2,90	0,60	92	59	12

Tabelle 8. Pankreatin + Gelatine.
37° C.

Kontrolle	5,85	5,85	5,85	100	100	100
1.10^{-4}m	5,60	5,85	5.65	96	100	96
$3,16.10^{-4}$m	5,50	5,75	5,60	94	98	96
1.10^{-3}m	5,55	5,65	5,35	95	96	91
$3,16.10^{-3}$m	5,50	5,40	4,80	94	92	82
1.10^{-2}m	5,50	4,90	2 80	94	84	48
$3.16.10^{-2}$m	5,50	4,45	1,10	94	76	19
$1\ 10^{-1}$m	5,50	3,20	0,95	94	55	16

die Pankreatinverdauung wohl hochgradig gehemmt, aber nicht aufgehoben. Die Hemmung beträgt 85—88%. Bei einer Konzentration von 1.10^{-2} m Oxalat zeigt sich der Unterschied in der Giftempfindlichkeit gegen Oxalat für die Pepsin- und Pankreatinverdauung des Caseins besonders deutlich. Bei 18° wird die Pepsinverdauung um 80%, die Pankreatinverdauung nur um 24% durch die gleiche Oxalatkonzentration gehemmt und bei der nächst höheren Verdünnung von $3,16—10^{-3}$ m um 54 bzw. 16%. Das Brom-

acetat verschlechtert die Pankreatinverdauung nur in höheren Konzentrationen. Die Hemmung beträgt beim Casein bei 1.10^{-1} m Bromacetat 19% und bei Gelatine 41%. Die Gelatineverdauung wird also durch die gleiche Giftkonzentration stärker herabgesetzt als die Caseinverdauung. Ein Unterschied zwischen den bei 18 und 37° ausgeführten Versuchen besteht nicht. Eine Abhängigkeit der Giftwirkung von der Temperatur läßt sich nur für die Pepsinverdauung nachweisen.

Dieselben Ergebnisse hatte Kaufmann, der die Gelatineverdauung bei 2% Fluorid (5.10^{-1} m) nicht verändert fand. Weitere Konzentrationen wurden von ihm nicht geprüft. Treyer hingegen kommt bei seinen Fluornatriumversuchen (NaF = 1%) zu dem Resultat, daß die Trypsinverdauung durch Fluorid wesentlich verzögert werde.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen stehen die Befunde von Weiß, der die tryptische Pankreasverdauung des Caseins selbst durch hohe Oxalatkonzentrationen kaum geschädigt fand. Selbst eine annähernd m/10 Lösung von Natriumoxalat hemmt bei ihm die Caseinverdauung nur um 6,4%, während die Hemmung in unseren Versuchen 73—85% ausmacht. Der Unterschied in den Versuchsergebnissen dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß Weiß seine Versuche erst nach einer Bebrütung von 40 Stunden bei 40° weiter verarbeitete. Es ist anzunehmen, daß nach dieser Zeit das gesamte Casein verdaut ist und eine Hemmungswirkung des Oxalats deswegen nicht festgestellt werden konnte. Wahrscheinlich wird im Kontrollversuch ohne Oxalat der Caseinabbau bereits längst vor Ablauf der 40 Stunden beendet gewesen sein und bei Oxalatzusatz derselbe Endpunkt, wenn auch später, aber vor Ablauf der Verdauungszeit erreicht worden sein.

Die Proteasen von normalen Organen (Niere und Leber) und bösartigen Tumoren (Tierkarzinome und Sarkome) werden nach Michlin und Rubel durch Monojodessigsäure m/1000 stark in ihrer Wirksamkeit gehemmt. Die Versuche wurden bei einem $p_H = 4$ und $p_H = 7{,}4$ durchgeführt. Die Hemmung ist in vielen Fällen vollkommen, manchmal aber auch nur mittelstark. In unseren

Versuchen übt eine Konzentration von 1.10^{-3} m Bromacetat nur einen geringen Einfluß auf die Eiweißverdauung durch Pepsin und Pankreatin aus. Die Gewebsproteasen sind mithin wesentlich giftempfindlicher als die eigentlichen Verdauungsfermente.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von Fluorid, Bromacetat und Oxalat auf die Eiweißverdauung durch Pepsinsalzsäure und Pankreatin untersucht. Das Oxalat verschlechtert mit ansteigender Konzentration den Eiweißabbau und zwar den Abbau durch Pepsinsalzsäure wesentlich stärker als durch Pankreatin. Bei einer Konzentration von 1.10^{-1} m Oxalat hört die Pepsinverdauung vollkommen auf, während die Pankreatinverdauung um rund 85% verzögert ist. Die Pepsinverdauung wird durch Fluorid und Bromacetat und die Pankreatinverdauung nur durch Bromacetat gehemmt. Die Pankreatinverdauung wird durch Fluorid nicht beeinflußt. Die Hemmungswirkungen von Fluorid und Bromacetat sind bedeutend geringer als von Oxalat. Die Giftwirkung der drei Stoffe ist in den bei Zimmertemperatur angestellten Versuchen größer als in den bei 37° ausgeführten. Das gilt nur für die Pepsinverdauung, nicht aber für die Pankreatinverdauung. Die im Schrifttum sich widersprechenden Angaben einer Reihe von Autoren werden erörtert und zu klären versucht.

Lebenslauf.

Am 21. Juni 1912 wurde ich als Tochter des Studiendirektors Dr. Robert Wäsche und seiner Frau Therese, geb. Blömeke, in Lindlar, Kreis Wipperfürth, geboren. Ostern 1931 bestand ich an dem Oberlyzeum der Dominikanerinnen zu Euskirchen die Reifeprüfung. Vom Sommersemester 1931 an studierte ich Zahnheilkunde an der Universität in München. Im Juli 1932 bestand ich die zahnärztliche Vorprüfung in Münster. Die klinischen Semester verbrachte ich in Graz und Münster und legte im Wintersemester 1934/35 mein zahnärztliches Staatsexamen ab.

Maria Wäsche.